

新カルバペネム系抗生物質carpetimycin類の構造研究

著者	中山 正人
号	776
発行年	1985
URL	http://hdl.handle.net/10097/24725

氏名・(本籍)	なか やま まさ ひと 中 山 正 人
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	理 第 7 7 6 号
学位授与年月日	昭 和 60 年 1 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
最 終 学 歴	昭和43年 3 月 東北大学理学部卒業
学位論文題目	新カルバペネム系抗生物質 carpetimycin 類の構造研究
論文審査委員	(主査) 教 授 伊 東 徹 教 授 高 瀬 嘉 平 教 授 吉 越 昭

論 文 目 次

- 第一章 序論 —— カルバペネム系抗生物質の概要
- 第二章 Carpetimycin A および B の構造
- 第三章 微量成分の構造

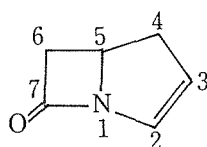
論文内容要旨

第一章 序論 —— カルバペネム系抗生物質の概要

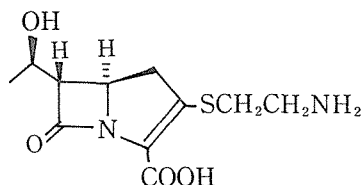
分子内に7-オキソ-1-アザビシクロ〔3,2,0〕ヘプト-2-エン骨格をもつカルバペネム系抗生物質は、従来の抗生物質に比較して、強力かつ広範囲な抗菌性を示し、 β -ラクタマーゼに対して強い阻害作用を併せもつなど理想的な化学療法剤として大いに期待されている。

その発見の歴史をたどると1976年の Merck の Kahan 等による thienamycin の発見以来、現在までに34種類もの化合物が報告されている。

本論文はその中の5つの化合物の構造研究で、第二章は carpetimycin A および B の構造、第三章は3つの微量成分の構造について記述する。



カルバペネム



Thienamycin

第二章 Carpetimycin A および B の構造

多数の放線菌の発酵培養液に対して、以下の3系を用いるスクリーニングを行ない、北海道の土壌から分離した KC-6643 株が新カルバペネム系抗生物質 carpetimycin A (1) および B (2) を産生することを見い出した。

- (1) *Pseudomonas aeruginosa* の β -ラクタム高度感受性変異株を用いる系。
- (2) β -ラクタマーゼ生産性の *Escherichia coli* に対する AB-PC との相乗効果により選択を行なう系。
- (3) 発酵培養液の加熱処理を行なう系。

化学的に安定なカルバペネム系抗生物質の発見を目的として、3番目の系を開発した。

1 および 2 のナトリウム塩は、発酵培養液から陰イオン交換樹脂、ダイヤイオン HP-20 そして HPLC 等を用いて単離され、無色粉末として得られた。単離工程において、培養液の熱処理、ダイヤイオン HP-20 の使用方法の拡大、逆相 HPLC を用いての精製等を開発した。1 および 2 は、他のカルバペネム系抗生物質より化学的に安定な物質であった。

1 はその UV からスルフォキシド基をもつ olivanic acid の中の MM-4550 (MC-696-SY2-A) と同じクロモフォアをもっているカルバペネム系抗生物質であると推察された。両者(ナトリウム塩)の ^1H -NMR を比較すると C-8 位以外はよく対応していた。そして H-5, H-6 の配向は結合定数からシスであると決定された。1 の分子式はその ^{13}C -NMR とメチル

エステル体(3)のFD-MSから $C_{14}H_{18}N_2O_6S$ と決定された。1のC-8位はp-ニトロベンジルエステル体(4)の 1H -NMRから1-ヒドロキシ-1-メチルエチル基であることが明らかになった。

以上のことから、1の構造はスルフォキシド基の配位を除いて表示のように推定された。

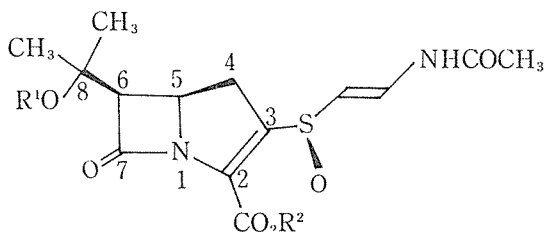
この推定は1のp-プロモベンジルエステル体(5)のX線結晶解析で確認され、スルフォキシド基の配位もRと決定された。カルバペネム系抗生物質の中で、X線結晶解析が行なわれたのはthienamycinの研究に続くものであり、スルフォキシド基の配位が決定されたのはこれが初めてのことである。

2はIRおよび高電圧汙紙電気泳動から硫酸基をもっていると推察された。2のp-ニトロベンジルエステル体(6)の 1H -NMRは、1の水酸基にあたるプロトンが観測されなかった。1と2のナトリウム塩の ^{13}C -NMRを比較すると、最も大きな相違はC-8位のケミカルシフト値であった。

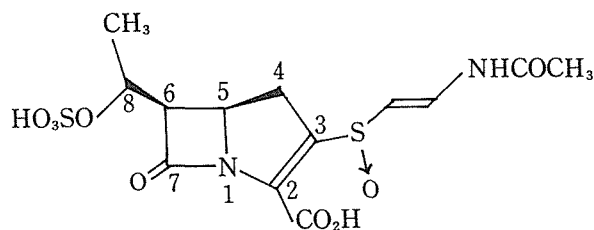
以上のことから、2は1の水酸基が硫酸基で置換された構造であると推察された。これは2を温和な条件で加水分解すると、1のナトリウム塩が得られることから確実にになった。多数の二塩基酸カルバペネム系抗生物質の中で硫酸エステルを加水分解して水酸基とし、抗菌力の強い一塩基酸に誘導できたのは、これが初めてのことである。この硫酸エステルの加水分解は、一般に β -ラクタム環の開裂とほぼ同時におこると考えられるが、2の場合は β -ラクタム環が安定であるため硫酸エステル加水分解反応速度の方が速く、1が生成されるものと考えられる。

なこ、温和な条件で化合物(6)の加水分解を行なうと、C-6-C-8間に二重結合をもつ化合物(7)が高収率で得られた。

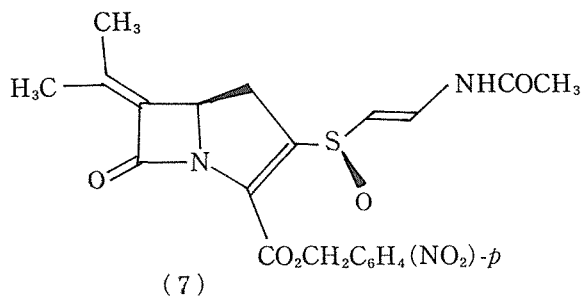
1および2のナトリウム塩は強力かつ広範囲な抗菌力と強い β -ラクタマーゼ阻害活性を示した。特に1のナトリウム塩はカルバペネム系抗生物質の中で最も強い抗菌活性を有するものの一つである。



- | | | |
|-----|----------------|----------------------------------|
| (1) | $R^1 = H,$ | $R^2 = H$ |
| (2) | $R^1 = SO_3H$ | $R^2 = H$ |
| (3) | $R^1 = H,$ | $R^2 = CH_3$ |
| (4) | $R^1 = H,$ | $R^2 = CH_2C_6H_4(NO_2) \cdot p$ |
| (5) | $R^1 = H,$ | $R^2 = CH_2C_6H_4Br \cdot p$ |
| (6) | $R^1 = SO_3H,$ | $R^2 = CH_2C_6H_4(NO_2) \cdot p$ |



MM 4550 (MC696-SY2-A)



第三章 微量成分の構造

放線菌 KC-6643 株が 1 および 2 以外に微量ながら 2 つの新カルバペネム系抗生物質 carpetimycin C(8) および D(9) を同時に産生することを見い出した。8 および 9 のナトリウム塩を 1 および 2 のナトリウム塩と同じように単離した。

8 の分子式はスペクトルデータとメチルエステル体の FD-MS から $C_{14}H_{20}N_2O_6S$ と決定された。8 と 1 のナトリウム塩の 1H -NMR を比較すると、8 にはビニルプロトンがなく、4 個のメチレンプロトンが観察された以外は、基本的に対応していた。そのことから 8 は 1 の C-3 位側鎖が飽和された置換基をもっていると推察された。スルフォキシド基の配位は生合成的見地から R であると推察された。

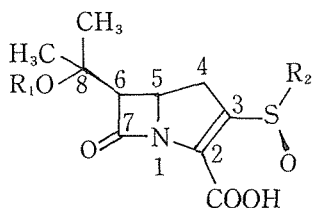
以上の推察を確実にするために、1 のナトリウム塩から 8 のナトリウム塩の合成を検討した。

1 の p-ニトロベンジルエステル体(4)を水素化ナトリウムの存在下、N-アセチルシステアミンと反応させ、化合物(10)を得た。10の保護基を除去した後、過酸で酸化して 2 つのスルフォキシド化合物を得た。その中の 1 つは、全ての点で 8 のナトリウム塩に一致した。そして HPLC の保持時間および抗菌力も 8 のスルフォキシド基の R 配位を支持した。

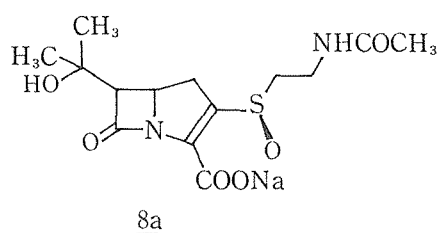
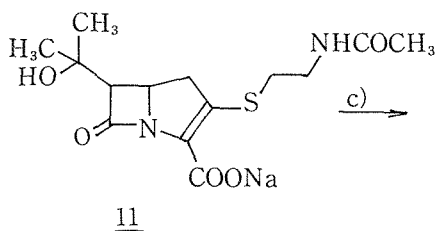
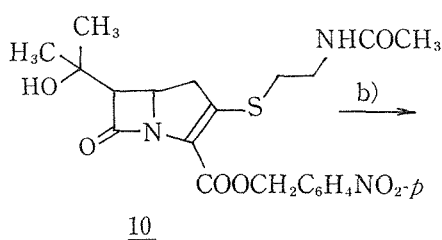
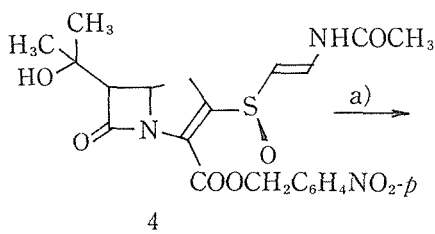
この C-3 位側鎖の変換反応を他のメルカプタンと行ない、数種類の 1 の C-3 位側鎖交換誘導体を得た。得られた化合物の中には、優れた生物活性を示すものがあった。

一方、9 は物理化学性質から 8 と同じクロモフォアをもつ二塩基酸であり、両者の化学構造上の関係は 2 と 1 のそれと同じであると推察された。これは 9 のナトリウム塩を温和な条件で加水分解すると、8 のナトリウム塩が得られることから確実になった。

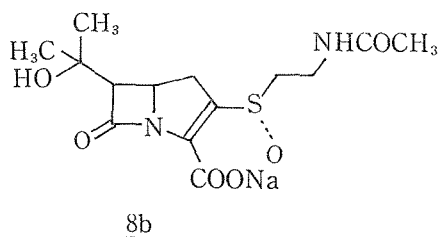
以上より 8 および 9 の構造を図示のように決定した。



	R ₁	R ₂
Carpetimycin A (1)	-H	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C}=\text{CNHCOCH}_3 \\ \\ \text{H} \end{array}$
Carpetimycin B (2)	-SO ₃ H	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C}=\text{CNHCOCH}_3 \\ \\ \text{H} \end{array}$
Carpetimycin C (8)	-H	-CH ₂ CH ₂ NHCOCH ₃
Carpetimycin D (9)	-SO ₃ H	-CH ₂ CH ₂ NHCOCH ₃



- a) HSCH₂CH₂NHCOCH₃, NaH/DMF
b) H₂-Pd-C/70% aq dioxane
c) m-CPBA/H₂O



8および9のナトリウム塩は1および2のナトリウム塩と同じように、強い抗菌活性を示した。

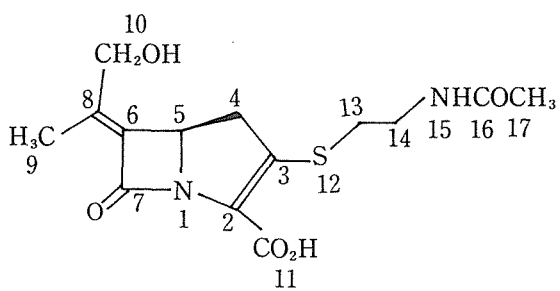
カルバペネム系抗生物質のスルフォキシドの絶対配置と CD との関係を明らかにする目的で、1および8の S-スルフォキシ異性体のナトリウム塩を合成し、その CD を測定した。スルフォキシド基が関与している発色団の波長は280-300nm であると考えられ、その領域での1のナトリウム塩と8のナトリウム塩およびその S-スルフォキシ異性体のナトリウム塩の CD の Cotton 効果の符号は、スルフォキシド基の絶対配位と対応しなかった。すなわち CD の結果から絶対配位を論ずることができないことが明らかになった。

1の生産性の向上を目的として、ニトロソグアニジンを用いて放線菌 KC-6643 株の改良を行っていたところ、1をほとんど産生しない変異株が得られた。この変異株が新カルバペネム抗生物質6643-X(12)を産生することを見い出した。12のナトリウム塩を1のナトリウム塩と同じように単離した。

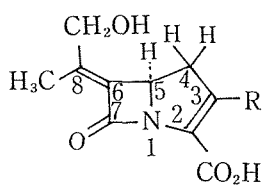
12は UV と $^1\text{H-NMR}$ から asparenomicin グループに属する化合物であると推察された。そこで asparenomicin A のナトリウム塩と12のナトリウム塩の $^{13}\text{C-NMR}$ を比較したところ、C-13位およびC-14位を除いてほぼ一致しており両者の構造上の類似性が明らかになった。12のC-13位およびC-14位は $^1\text{H-NMR}$ から飽和されていると考えられた。二重結合の立体配置は、12のナトリウム塩を酸性水に放置後、高電圧沔紙電気泳動を行ない二塩基酸のスポットを確認したことから E であると推定した。

以上の結果から、12は asparenomicin C のジヒドロ化合物であると推定され、そのメチルエステル体の高分解能 MS も、その推定を支持した。

12のナトリウム塩は、1および8のナトリウム塩よりは弱い³が、広範囲な抗菌活性を示した。



6643-X (12)



	R
Asparenomycin A	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{H} \\ \uparrow \quad \\ -\text{S}-\text{C}=\text{C}-\text{NHCOCH}_3 \\ (\text{R}) \quad \\ \text{H} \end{array}$
Asparenomycin B	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \uparrow \\ -\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NHCOCH}_3 \\ (\text{R}) \end{array}$
Asparenomycin C	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{S}-\text{C}=\text{C}-\text{NHCOCH}_3 \\ \\ \text{H} \end{array}$

論文審査の結果の要旨

チエナマイシンに代表されるカルバペネム系抗生物質は強力かつ広範囲な抗菌性を示し、理想的な化学療法剤として知られているが、生産量が低く、化学的にも不安定なため、安定な新抗生物質が求められている。著者はこの要望にこたえて放線菌から化学的に安定な抗菌性カルバペネムであるカルペチマイシン A, B, C, D(以下、夫々CaA, CaB……と略す)を単離し、それらの構造を決定した。本論文はその過程を詳述したものである。

カルバペネム類の発見の歴史をたどった序論について第二章でCaA, CaBの単離と構造決定を述べている。先ず検定法として広く用いられている方法のほか、発酵液を加熱することにより不安定な物質を分解する方法を確立し、この方法を多数の放線菌に適用し、北海道産土壌から得られたKC-6643株から種々の新しい分離法を適用して新物質2種を単離し、CaA, CaBと命名した。抗菌性スペクトルはこれらがカルバペネム系に属することを、電気流動、赤外スペクトルはこれらがスルホキシドでありCaAがカルボン酸、主産物のCaBはその他に硫酸基をもつことを示している。CaAの構造は H^1 および C^{13} 核磁気共鳴により推定され、前者のp-プロモベンジルエステルのX線結晶解析により確立した。CaBの構造もスペクトルにより推定され、その加水分解でCaAと硫酸が得られることにより確立した。CaAはカルバペネム類で最も強い抗菌力をもつものの一つであり、CaBはその1/10である。

第三章ではCaA, CaBの分離過程で得られた微量成分CaC, CaD構造について述べている。各種スペクトルから、これらが夫々ジヒドロCaA, ジヒドロCaBであることを推定し、4段階の化学変換によってCaAからCaCを導き、またCaDからCaCを導くことにより、この推定をたしかめた。両者は夫々CaA, CaBと同程度の抗菌力を示す。この変換の際に得られたスルホキシドの立体異性体のCDスペクトルを測定した結果、Cotton効果の付号が絶対構造と対応せず従来言われていた相関関係が誤であることがわかった。またC-6643株の変性株から得られた新物質6643-XがデスオキシアスパレノマイシンBであることをスペクトルデータから推定した。

これらの結果は、著者が自立して研究活動を行なうに必要な高度の研究能力と学識を有することを示している。

よって中山正人提出の論文は理学博士の学位論文として合格と認める。